

研 究 報 文

食 用 植 物 成 分 研 究 (第2報)

紅 蓼 色 素 成 分 の 研 究

工 藤 豊,* 安 福 英 子**

江 崎 君 子,*** 弘 田 勝 子

I 緒 言

ヤナギタデ (*Polygonum hydropiper* Linn) の栽培品で、芽生えが特に深紅色を呈するものを「ベニタデ」と呼び古くから料理の「つま」として賞用している。色素に関する研究は1913年に Willstätter¹⁾ 一門の画期的な研究によってその構造が明らかにされて以来、飛躍的な発展を遂げ、最近ではペーパークロマトグラフィー、カラムクロマトグラフィー、吸収スペクトル法、電気泳動法等の駆使によりその微量調査が可能となつて、かなり多数の色素について、その組成が明らかにされている。蓼に関する研究は、1935年川口利一、金基禹²⁾両氏が初めてヤナギタデより一種のフラバノン配糖体を分離している。また A. G. Perkin & J. J. Hummel³⁾ はアラセイトウ (*Cheiranthus Cheir* Linn) におけるシアニジンとクエルセチンの共存している事を報告している。著者等は紅蓼の抽出液をペーパークロマトグラフィーによって、3個のスポットを認め、その Rf およびスポットの呈色反応よりアントシアンのシアニジン配糖体の一種であることを認め、カラムクロマトグラフィーにより分離した。またフラボンの分離法に基づいてクエルセチンを分離したので報告する。

II 実 験 の 部

[1] 紅蓼色素の抽出、分離及び精製

(1) 供試料

静岡市中島、大長農園及び広島市西観音町、古谷農園において5月～11月迄に栽培された新鮮幼芽より夾雑物を除去したものを使用した。

(2) 抽出

紅蓼をメタノールで二回3時間宛加熱抽出し、抽出液からメタノールを除去する。残査を温時¹⁾過し、¹⁾

液に酢酸鉛の飽和溶液を加えて生ずる沈殿を¹⁾取する。この沈殿を水に浮遊し硫化水素を通じて脱鉛し¹⁾液を減圧下で濃縮する。

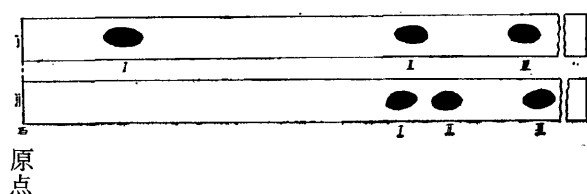
(3) ペーパークロマトグラフィーによる検索

- 検液；鉛塩法による抽出液を使用
- 展開方法；一次元上昇法
- 吸着剤；東洋¹⁾紙 No. 50 (40×2 cm)
- 展開溶媒；i) ブタノール：酢酸：水 (4：1：5) ii) 酢酸：塩酸：水 (5：1：5)
- 展開時間及び展開温度；32°C 恒温器中で18時間
- 結果

(第1表) 検液の Rf 値及び呈色と既知色素との比較

	溶 媒	Rf 値		呈 色		
		ブタノール：酢酸：水 (4:1:5)	酢酸：塩酸：水 (5:1:5)	原 色	炭 酸ソーダ	塩基性酢酸鉛
実験値	スポットⅠ	0.26	0.60	赤紫色	青 色	青紫色
	スポットⅡ	0.69	0.79	淡黄色	黄褐色	褐色
	スポットⅢ	0.91	0.93	黄緑色	緑褐色	褐色
文献値	イ デ イ ン	0.27	0.60	赤緑色	青 色	青紫色
	クエルセチン	0.68	0.80	黄 色	橙褐色	褐(橙)
	クロロフィル	0.92	0.95	緑 色	黄褐色	褐色

(第1図) ペーパークロマトグラフィーによる検索



以上の結果より赤紫色のスポットはイデイン、淡黄色はクエルセチン黄緑色はクロロフィルと推定される

(4) 吸着法による分離

* 本学教授 ** 本学助手 *** 本学副手

活性アルミナを吸着剤として、蒸留水に懸濁し、吸着管 (2.5×40cm) に湿式法にて充填を行い吸着柱を作った。抽出濃縮液を流し込み蒸留水で展開し、暗緑色の着色分別帯を分離する。これを1%塩酸含有アルコールで溶出後、濃縮して放冷すると黒褐色のコロイドが析出して来る。これを別して1%塩酸含有50%アルコールにより再結晶した。融点 191°C~192°C (分解)

(5) ピクリン酸塩

アントシアン塩化物を0.1%塩酸に温溶して等量の冷飽和ピクリン酸水溶液を加え濾過したのち放冷する。折出した赤褐色の結晶に不純物の混在が認められたため、再び塩化物に変えてピクラートとした。すなわち、ピクリン酸塩を4%メタノール塩酸にとかすと直ちに塩化物になり、不純物はコロイド状に析出する。これを濾去したのち、濾液に6倍容のエーテルを加えて色素を沈殿させた。沈殿物を冷飽和ピクリン酸溶液に温溶し、少量の樹脂状の難溶物を濾去したのち、氷室中に放置すると、赤褐色の結晶が得られた。本結晶は温水、メタノール、エタノールに易容、冷水には難溶である。融点160°C (分解)

〔2〕 アントシアン色素の同定法

(1) 呈色反応

(第2表) アントシアン塩酸塩の呈色反応

呈 色 試 薬	塩酸塩の呈色	イデインの呈色
塩化第二鉄	青 色	青 色
炭酸ナトリウム	青 緑 色	紫 色
苛性ソーダ	緑色→黄色	青色→緑色→黄色
カリ明ばん	赤 紫 色	紫 色
亜 鉛	青 色	青 色
酢 酸 銅	青 色	青 色
酢 酸 鉛	青色沈殿	青色沈殿
酢酸カリウム	青色沈殿	青色沈殿

呈色反応の結果イデインの呈色反応と一致した。

(2) 配糖体の加水分解

単離したアントシアン塩酸塩を20%塩酸で5分間直火で加熱して加水分解を行った。加熱時配糖体は一度溶解すると同時に分解されて赤褐色のアグリコンの沈殿物が生じたので、これを精製した。

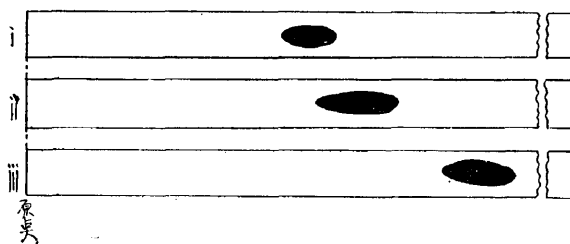
(3) アグリコン

加水分解生成物である赤褐色沈殿をエーテルで洗ったのち、少量のエタノールに温溶後7%塩酸の半容を加え放冷し赤褐色の結晶を得た。本結晶の呈色反応および性状は次の如くである。アミルアルコールには深

紅色に溶解しこれを酢酸ナトリウム水溶液で振ると紫青色炭酸ナトリウム水溶液では青色となって水層に転溶する。アグリコンのアルコール溶液は炭酸ナトリウムで紫青色、塩化第二鉄で深青色に変わり、酢酸鉛により青色の沈殿を生ずる。アルコール類には易溶、水に難溶、ベンゼン、石油エーテル、アセトンには不溶、融点 300°C (分解)。次ぎにペーパークロマトグラフィーを試みた。

- 検液；アグリコンをアミルアルコールに溶解したものを使用。
- 展開方法；一次元上昇法
- 吸着剤；東洋濾紙 No50 (40×2 cm)
- 展開溶媒：i) 水酢酸：濃塩酸：水 (5:1:5)
ii) アセトン：塩酸 (1:1)
iii) 乳酸：水 (1:1)
- 展開温度及び展開時間；20°C, 15時間
- 結果

(第2図) アグリコンのペーパークロマトグラフィー



(第3表) アグリコンの Rf 値

溶媒	水酢酸:濃塩酸:水 5:1:5	アセトン:塩酸 1:1	乳酸:水 1:1
検 液	0.32	0.37	0.55
シアニジン	0.34	0.37	0.55

第2図、第3表の如くシアニジンの Rf 値に一致した。

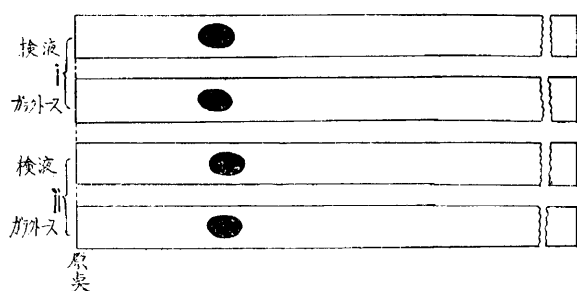
(4) 結合糖

加水分解による糖を含む酸性母液はわずかに橙色を呈している。これを等量の水で希釈したのち、エーテルにて2回振り取り、次いで水層を水飽和イソアミルアルコールの少量で振り残存せるアグリコンを移行させ、再び水層を少量のエーテルで振って溶存するアミルアルコールを除いたのち、湯浴上で留去し真空デシケーター中で乾固する。これを蒸留水に溶解し試料とする。Fehling 溶液を還元する。糖液は常法によりメチルフェニルヒドラゾンの黄褐色の結晶を生成する。融点185°C

次ぎにペーパークロマトグラフィーを試みた。

- a) 検液; 上記糖液に純粋なガラクトース標品を混溶
 b) 展開方法; 一次元上昇法
 c) 吸着剤; 東洋濾紙No50 (40×2 cm)
 d) 展開溶媒; i) ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:5) ii) ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:2)
 e) 展開温度及び展開時間; 20°C恒温器中で15時間
 f) 発色法; ベンチヂンを噴霧し, 115°C の恒温器中で5分間加熱発色。
 g) 結果; 第3図の如く明瞭なる1個のスポットを認め, その Rf 値はガラクトースに一致した。また一定条件下で多重展開を試みたがスポットの分離を認めなかったため同一の糖ガラクトースであることを確認した。

(第3図) 糖のペーパークロマトグラフィー



(第4表) 糖の Rf 値

溶媒	ブタノール: 酢酸: 水	
	4:1:5	4:1:2
検液	0.15	0.16
ガラクトース	0.15	0.16

(5) 吸収スペクトル

配糖体及びアグリコンの結晶を M/10000 のエタノール溶液 (0.01%濃度に塩酸を含む) に調製した検液を Beckman 分光光度計により測定した。

Harborne の報告によると, アントシアン系色素は各々特有の吸収極大値を示し, その波長の差によって糖の結合位置が解る。第5表の如く配糖体が 520mμ にアグリコンが 540mμ に極大を示し両者に 20mμ の差を示すことにより, 3 の位置に糖が結合していると推定できる。

(第5表) アントシアンの吸収極大 (波長 mμ)

	I	II	III	IV	V
配糖体	520	—	333	282	—
イデイン	520	—	330	280	—
アグリコン	540	—	—	278	280
シアニジン	540	—	—	270	270

以上同定法を総合してアントシアン塩酸塩の結晶をイデイン (シアニジン-3-ガラクトサイド) と確認した。

〔3〕 ケルセチンの分離及び同定

イデインのアグリコン部はシアニジンであり, シアニジンとケルセチンが共存する事はすでにアラセイトウ, Jonathan apple⁵⁾ により示されている点等を考慮して, フラボンの分離法を適用した。

(1) 分離

紅蓼の新鮮試料を朝比奈式抽出器によりエーテル抽出を行い, 緑褐色の抽出液よりエーテルを留去し, エーテルエキスとなし一夜間放置する際黄褐色の葉状粗結晶が析出する。これを70%アセトンに溶解しその可溶部よりアセトンを留去するため, 緑色のクロロフィルが析出するまで減圧濃縮を行った。クロロフィルを分別した透明な黄色液を更に濃縮するとレモン黄色の結晶が析出する。析出物を50%アルコールで再結, 融点 315°C~317°C (分解)。本結晶をケルセチンの標品と混融しても融点降下を認めなかった。

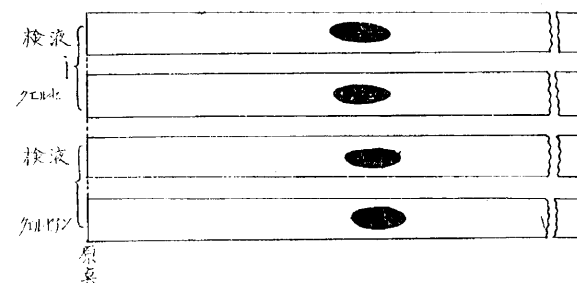
(2) 性状

HCl-Mg 反応を呈し, 塩化第二鉄により暗緑色, これを熱すれば暗赤色となり, 酢酸鉛により煉瓦色の沈殿を生じる。また, Fehling 溶液を還元する。

(3) ペーパークロマトグラフィーによる検索

- a) 検液; 分離した結晶のアルコール溶液
 b) 展開方法; 一次元上昇法
 c) 吸着剤; 東洋濾紙 No. 50 (40×2 cm)
 d) 展開溶媒; ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:5)
 ブタノール: 酢酸: 水 (1:4:2)
 e) 展開温度及び展開時間; 20°C, 15時間
 f) 結果

(第4図) ケルセチンペーパークロマトグラフィー



(第6表) ケルセチンの Rf 値

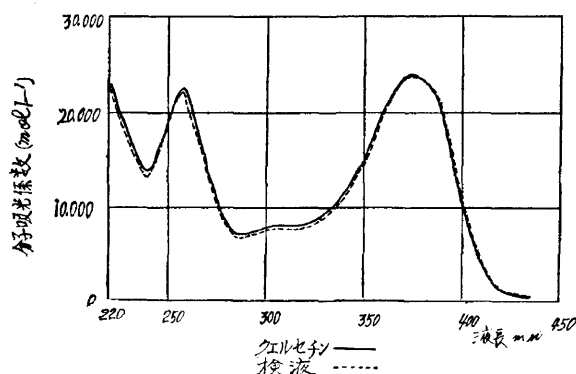
溶媒	ブタノール: 酢酸: 水	
	4:1:5	1:4:2
検液	0.78	0.79
ケルセチン	0.78	0.80

以上の如くクエルセチンの Rf 値と一致した。またクエルセチンの標品と混溶し多重展開を試みたがスポットの分離を認めなかったのでクエルセチンであることを確認した。

(4) 吸収スペクトル

アントシアン色素の場合と同様に検液を調製し Beckman 分光光度計により測定した。第5図、第7表の如き、吸収曲線の特徴的な変形及び吸収極大値によりクエルセチンであることを確認した。

(第5図) クエルセチンの吸収スペクトル



(第7表) クエルセチンの吸収極大 (波長 mμ)

	I	II
検 液	375	256
クエルセチン	375	258

以上の同定結果よりクエルセチンの共存している事を認めた。

Ⅲ 結論及び考察

紅蓼の色素成分の究明を目的として本研究を試みたが、色素主成分としてイデインを分離確認した。一般に植物に含有されるアントシアンはクリサテミン (シアニジン-3-グルコサイド) であり、このようにガラクトース配糖体である例は今までに、こけもも (*Vaccinium Vitisidaea* Linn) の果皮、および常時紫褐色の葉を具える、ぶな的一种 (*Fagus silvetica* Linn. var *atropurpurea* Hor) ヤツデ (*Fatsia japonica* Decn. et Planch) の果皮など以外には知られていない。次ぎにアントシアンとフラボンの関係であるが、これら両者が各所に共存することは少なからず知られている。そのうちアグリコンが構造上密接な関係にある場合、例えば(1)シアニジンとクエルセチン、(2)ミリセチンとデルフィニジン、(3)イゾクエルチトリンとクリサテミンの如きものである。本実験に

においても、紅蓼中にシアニジンとクエルセチンの共存することが認められたが、その他紅バラ、アラセイト Jonathan apple においても認められており、(2)については A. E. Everest の三色スミレに(3)については R. T. Milner & M. S. Sherma のトウモロコシの紫色の苞において各々示されている。こうした関係を考察すれば、両者の間に還元生成の関係があるものと思われる。しかし一方ヒエンソウの花にケムフェロールとシアニジンおよびデルフィニジンとが含まれ、またキンギョソウの花にルテオリンおよびアピゲニンに対してシアニジン配糖体が含まれているような例も示されており、紅蓼中にシアニジンとクエルセチンの共存が認められたことは、還元生成説を裏づける一例として注目し値する。

鉛塩法および吸着法により紫褐色のアントシアン塩酸塩の結晶を分離した。融点、呈色反応および性質、加水分解生成物、ペーパークロマトグラフィー、吸収スペクトル等によりイデインと確認した。

塩酸で加水分解を行いアグリコン部は融点、呈色反応および性質、ペーパークロマトグラフィーの結果等からシアニジン、糖部はペーパークロマトグラフィーおよび誘導体としてメチルフェニルヒドラゾンをつくりその融点の一致によりガラクトースと確認した。イデインおよびシアニジンの結晶について吸収スペクトルを行い、その極大を示す波長の差により3の位置が結合していると認めた。

フラボンの分離法に基づいてエーテル抽出を行いレモン黄色微細針状結晶を得た。その呈色反応および性質、融点およびペーパークロマトグラフィー、吸収スペクトルの吸収曲線等からクエルセチンの存在を確認した。

本研究は38年6月8日農芸化学会関西支部大会において発表した。

参 考 文 献

- 1) R. Willstätter nmd A. E. Everest; Liebigs Ann. Chem 401, 189 (1913); Liebigs Ann. Chem 412, 113~216 (1916)
- 2) 川口利一, 金基禹; 朝鮮薬学 15, 85~86 (1935); 朝鮮薬学 17, 11~13 (1936); 朝鮮薬学 57, 767~769 (1937); 朝鮮薬学 60, 352~353 (1940)
- 川口利一, 石渡潔; 朝鮮薬学 64, 76~79 (1944)
- 立田晴雄; 日本化学雑誌 75, 9, 939 (1954)
- 3) A. G. Perkin & J. J. Hummel; Jourm. Chem. Soc. London 69, 1566 (1896)

- 4) J. B. Harborme ; Biochem. J 70, 22~28
(1958)
- 5) C. E. Sando ; Jour biochem, Journ 24, 48
(1930)
- 6) Shibata. M. and Ishikura. N ; Jap ; Jour.
Bot 17, 2 (1960)
- 7) R. T. Milnir & M. S. Sherman ; Journ. biol.
Chem 109. 203 (1935)